sysmex

体外診断用医薬品

製造販売届出番号 28A2X00030000002

この添付文書をよく読んでから使用してください.

LDLーコレステロールキット

LDL-C試薬・KL 「コクサイ」

【全般的な注意】
(1) 本品は体外診断用医薬品です. これ以外の目的には使用しないでください.
(2) 診断の際には, 他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください.
(3) 添付文書以外の使用方法については保証をいたしません.
(4) 測定に使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください.

【開発の経緯及び特徴】
(1) 開発の経緯
血中のLDL(Low density lipoprotein)は肝臓から末梢細胞へのコレステロールの輸送に重要な役割を果たしています. LDL分画中のコレステロールは, LDL-コレステロールと呼ばれ動脈硬化疾患, 虚血性心疾患の診断指標のひとつとして知られています.
LDL-C濃度の測定には, 超遠心法, 電気泳動法, HPLC法などがありますが, 特別な装置と複雑な操作が必要である上に多検体処理が困難な為, 一般的に容易な計算法であるFriedewald(FD)式が用いられています. しかし, この方法は総コレステロール, 高比重リポ蛋白コレステロールおよび, 中性脂肪の測定値から計算される為, 各々の測定法の問題点が関与することは避けられません.
本キットは, 分画操作が不要で完全自動化が可能な直接法です. 更に, 試薬は液状ですので取り扱いが容易です.
(2) 特徴
1) 血清成分の干渉を受け難いコレステロール脱水素酵素を用いたCDH-UV法です.
2) 遠心分離などの特殊な操作を必要としない測定方法ですので, 各種自動分析機による測定ができます.
3) 試薬は使いやすい液状試薬です.

【形状・構造等(キットの構成)】
本キットは次の試薬より構成されています.
(1) 前処理液
β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型無水(β-NAD)他.
(2) 酵素液
コレステロール脱水素酵素他.
(3) 標準LDL-C
ヒト由来コレステロール

【使用目的】
血清又は血漿中のLDL-コレステロールの測定.

【測定原理】
血清中のコレステロールは, 遊離型コレステロールあるいは脂肪酸エステルとして, LDL(Low Density Lipoprotein), HDL(High Density Lipoprotein), VLDL(Very Low Density Lipoprotein)及びCM(カイロミクロン)に存在します.
硫酸カリクス[8]アレンは, リポ蛋白と可溶性複合体を形成します. その結果, 各リポ蛋白の表面は親水性構造に変わり, 酵素の加水分解作用に阻害が生じます. 各リポ蛋白におけるこの阻害の差異を利用して, LDLコレステロール(LDL-C)を測定します.
第一反応において, LDLと硫酸カリクス[8]アレンは可溶性複合体を形成し, LDLを安定化します. 他のリポ蛋白は, LPL(CE)の作用で分解され, エステル型および遊離型コレステロールが遊離されます. 更に, このエステル型コレステロールおよび遊離型コレステロールは, ヒドラジンの存在下で, LPL(CE)が持つコレステロールエステラーゼ(CE)の作用とコレステロールオキシダーゼ(CO)の作用を受けて, 酵素的に触媒作用を受けないコレステノンヒドラゾンになります. 第二反応において可溶性複合体を形成しているLDLをコール酸の存在下, LPL(CE)を用いて分解します. 次いで, 遊離するエステル型および遊離型コレステロールを, β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型(β-NAD), コレステロール脱水素酵素(CDH)及びLPL(CE)の存在下で酸化します. この時生じるβ-NADHの生成量を波長330nm～350nm(または330～350nmを主波長とし, 500～700nmを副波長とした2波長差)における吸光度を測定することにより, 検体中のLDL-コレステロール濃度(mg/dL)を求めます.

(第一反応)

LDL＋硫酸カリクス[8]アレン ⟶ 可溶性複合体

HDL, VLDL, CM $\xrightarrow{\text{LPL(CE)}}$ エステル型コレステロール＋遊離型コレステロール

エステル型コレステロール＋H_2O $\xrightarrow{\text{LPL(CE)}}$ 遊離型コレステロール＋脂肪酸

遊離型コレステロール $\xrightarrow{\text{CO}}$ コレスト-4-エン-3-オン

コレスト-4-エン-3-オン＋ヒドラジン ⟶ コレステノンヒドラゾン

(第二反応)

LDL-カリクス[8]アレン可溶性複合体 $\xrightarrow{\text{LPL(CE)/コール酸}}$ エステル型コレステロール＋遊離型コレステロール

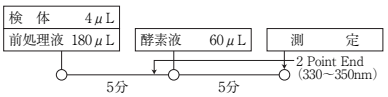
エステル型コレステロール＋H_2O $\xrightarrow{\text{LPL(CE)}}$ 遊離型コレステロール＋脂肪酸

遊離型コレステロール＋β-NAD $\xrightarrow{\text{CDH}}$ コレスト-4-エン-3-オン＋β-NADH＋H^+

コレスト-4-エン-3-オン＋ヒドラジン ⟶ コレステノンヒドラゾン

【操作上の注意】
(1) 測定試料の性質, 採取法
1) 検体は採取後, 速やかに血餅と分離して使用してください.
2) 血清または血漿はできるだけ新鮮なもの(3日以内)を使用してください. 凍結融解を繰り返した検体, または冷蔵下でも3日以上保存した検体は使用しないでください.
(2) 妨害物質・妨害薬剤
1) 強度の乳び検体は正確に測定できない場合がありますので注意してください.
2) 中性脂肪が1500mg/dL以上の検体は生理食塩水で希釈して測定してください.
3) 強度の溶血は測定誤差を与える場合がありますので注意してください.
(3) その他
1) コントロール血清には測定方法によって乖離するものがありますので注意してください.

【用法・用量(操作方法)】
本キットをご使用になる前に, 必ず使用上又は取扱い上の注意をお読みください.
(1) 試薬の調製方法
1) 前処理液
前処理液をそのまま使用します.
開封後は2～8℃保存で30日以内に使用してください.
2) 酵素液
酵素液をそのまま使用します.
開封後は2～8℃保存で30日以内に使用してください.
3) 標準液
標準LDL-Cに精製水3mLを加えて溶解し標準液とします.
(2) 標準測定(操作)法



1) 検体4μLに前処理液180μLを加え, 37℃で5分間反応後盲検を対照に主波長340nm, 副波長570nmにおける吸光度(E_1)を測定します. 次に, 酵素液60μLを加えて37℃で5分間反応後, 盲検を対照に主波長340nm, 副波長570nmにおける吸光度(E_2)を測定します. なお, 盲検は検体の代わりに精製水を用います.
2) 標準液を上記1)と同様に操作して, 各々吸光度(E_3及びE_4)を求め, 次式より濃度(mg/dL)を算出します.
3) 算出法

$$\text{検体濃度(mg/dL)} = \frac{(E_2 - E_1)}{(E_4 - E_3)} \times \text{標準液の濃度}$$

【測定結果の判定法】
スクリーニングのための高脂血症の診断基準より, 高LDLコレステロール血症の診断基準:140mg/dL以上(3.62mmol/L以上). (4)
(　)内のSI単位への換算係数は0.02586を使用しています. (5)

【性能】
(1) 性能
用法及び用量欄の操作方法により, 感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合, 下記の規格値に適合します.
1) 感度
①精製水を試料として操作するときの吸光度は0.10以下です。
②上記①を対照に標準液(112mg/dL)を試料として操作するとき100mg/dLにつき吸光度は0.10～0.20です.
2) 正確性
既知濃度の管理用血清を測定するとき既知濃度の±10%以内にあります.
3) 同時再現性
同一検体を5回同時に測定するとき測定値のCV値は5%以下です.
4) 測定範囲
本キットは, 1～350mg/dLまで希釈直線性があります.
(2) 相関性
血清検体99例についてA社製品と相関性を検討した結果は, 相関係数r=0.996, 回帰式Y=0.974X+2.735と良好な結果となりました. また, 血漿検体81例についてA社製品と相関性を検討した結果は, 相関係数r=0.996, 回帰式Y=0.975+4.935と良好な結果となりました.
(3) 較正用基準物質に関する情報
CDC標準法で値付けを行った一次標準物質(血清)

【使用上又は取扱い上の注意】
(1) 取扱い上(危険防止)の注意
1) 検体は肝炎ウイルスなどの感染の危険性を考慮して取り扱ってください.
2) 本キット中の酵素液にはアジ化ナトリウムが含まれています. 誤って目や口に入ったり, 皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い, 必要があれば医師の手当等を受けてください.
(2) 使用上の注意
1) 本キットの操作は用法・用量欄に従って行ってください.
2) 本キットはラベル記載の使用期限内に使用してください.
3) 自動分析装置への応用は試薬手引書及び自動分析装置の取扱説明書を参照してください.

(3)廃棄上の注意
本キット中の酵素液にはアジ化ナトリウムが含まれていますが, 法的には毒物として取り扱われません. アジ化ナトリウムは鉛・銅などの金属と反応して爆発性の化合物を生成する危険性がありますので, 本品の廃棄の際には大量の水と共に流してください.

【貯蔵方法・有効期間】
貯蔵方法:　2～8℃
有効期間:　12ヵ月

【包装単位】

製商品名	構成試薬名	包装
LDL・C-P・KL・R1	前処理液	60mL×3
LDL・C-P・KL・R2	酵素液	20mL×3

(関連製品)

製商品名	包装
脂質キャリブレーター(KL)	3mL分×3

【主要文献】
(1)南部　征喜, 中尾　義喜:血清コレステロール, 臨床検査MOOK　No.4:15～28, 1980.
(2)杉内　博幸:リポ蛋白コレステロール直接測定法の原理と諸問題, 臨床病理特集第109号 臨床検査 Yearbook'99:126～139, 1999.
(3)岸　浩司　他:コレステロール脱水素酵素を用いた血清LDL-コレステロール測定法, 生物試料分析 Vol.21, No5:385～392, 1998.
(4)日本動脈硬化学会:「動脈硬化性疾患診療ガイドライン　2002年版」:5-7, 2002.
(5)日本臨床化学会学術連絡委員会:「SI単位換算表の掲載にあたって」, 委員会報告(1994-2-1), 臨床化学23:39-47, 1994.

【問合せ先】
主要文献の内容, その他ご質問等は, 下記にお問い合わせください.
シスメックス株式会社 CSセンター
〒651-2241　神戸市西区室谷1丁目3番地の2
TEL　0120-413-034

製造販売元
シスメックス株式会社
神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073 TEL(078)265-0500(代)